

**Versuche zur ^{14}C -Signierung
künstlicher Antioxydantien
im Hinblick auf deren Verhalten
im Organismus**

INAUGURALDISSERTATION

zur Erlangung der philosophischen Doktorwürde
vorgelegt der
Philosophisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Universität Basel

von

HANS THOMMEN

aus Gelterkinden/BL

1958

**Versuche zur ^{14}C -Signierung
künstlicher Antioxydantien
im Hinblick auf deren Verhalten
im Organismus**

INAUGURALDISSERTATION

zur Erlangung der philosophischen Doktorwürde
vorgelegt der
Philosophisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Universität Basel

von

HANS THOMMEN

aus Gelterkinden/BL





Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546710_0004

Genehmigt von der Philosophisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät auf
Antrag der Herren Professoren *K. Bernhard* und *H. Dahn*.

Basel, den 18. Februar 1958.

K. Meyer, Dekan

Meinen lieben Eltern in Dankbarkeit gewidmet

Herrn Prof. Dr. K. Bernhard möchte ich auch an dieser Stelle für seine wertvollen Ratschläge und für sein ständiges Interesse an meiner Arbeit den besten Dank aussprechen.

INHALTSVERZEICHNIS

I. Einleitung	9
II. Problemstellung	11
III. Synthetischer Teil	
A. Herstellung carboxyl-signierter α -Phenylisobuttersäure. . .	14
B. Herstellung carboxyl-signierter α -[m-Methoxy-phenyl]-isobuttersäure.	19
C. Experimenteller Teil.	21
IV. Verhalten der α -Phenylisobuttersäure im Stoffwechsel	
A. Theoretisches.	36
B. Experimentelles.	42
C. Diskussion der Ergebnisse	42
V. Zusammenfassung	44
VI. Literaturverzeichnis	46

I. EINLEITUNG

Chemische Beimengungen zu Nahrungsmitteln erfolgen heute unter den verschiedensten Aspekten und werden zu wichtigen, ja dringlichen Problemen der Ernährungsforschung. Die Zahl der chemischen Substanzen, die auf irgend eine Weise in die tägliche Nahrung gelangen, wird indessen vielfach übertrieben (1), dürfte aber doch auf 60–100 geschätzt werden (2). Es ist begreiflich, dass die Frage nach dem Schicksal solcher Stoffe im Organismus und nach den von ihnen ausgelösten Auswirkungen sich geradezu aufdrängt.

Die Eidg. Lebensmittelgesetzgebung erlaubt seit einiger Zeit, ausländischen Verfügungen folgend, die Verwendung gewisser *Antioxydantien*. Art. 443, I. lautet: Als Antioxydantien für Fette und Öle gelten Stoffe, welche der sogenannten Talgigkeit der Fette, der Verderbnis durch Einwirkung von Luftsauerstoff, Licht- und Metallspuren entgegenwirken.

Es ist seit langem bekannt, dass gewisse *natürliche Verbindungen* wie Tocopherole, Ascorbinsäure, Gewürzbestandteile, bestimmte Aminosäuren, Zitronensäure etc. antioxydative Eigenschaften aufweisen, also gewissermassen einen natürlichen Schutz darstellen. Solche Komponenten dürfen den Lebensmitteln zugesetzt werden, vorausgesetzt, dass ihre Menge damit in der Gesamtnahrung nicht wesentlich über den normalen Gehalt ansteigt.

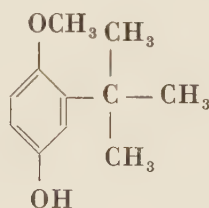
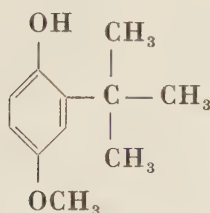
An «künstlichen» Antioxydantien sind in der Schweiz von den Alkylgallaten Propyl-, Octyl- und Dodecyl-Gallat im Ausmasse von 0,01%, ferner butyliertes Hydroxy-anisol (BHA) bis zu 0,02% erlaubt. Die Zusätze dürfen zu Rindsfett, Schweinefett und Geflügelfett erfolgen, ferner zu Fetten, die für Dauerbackwaren und Confiseriewaren bestimmt sind oder für Suppenpräparate Verwendung finden.

Über das Verhalten von als «künstliche Antioxydantien» gebrauchten Verbindungen oder ähnlichen Stoffen im Tierkörper liegen von verschiedener Seite Untersuchungen vor, die indessen zumeist die quantitative Seite des Problems nicht hinreichend berücksichtigen. Im Hinblick auf die von solchen Zusätzen gegebenenfalls ausgehenden Schädigungen der Gesundheit ist es vor allem wichtig, möglichst vollständige Angaben über Retention und Ausscheidung, Abbau oder Paarung einer derartigen Ver-

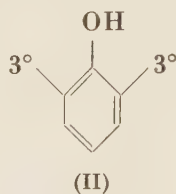
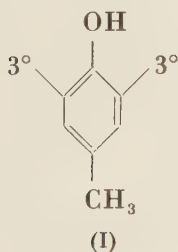
bindung zu erbringen. Mit Hilfe der Isotopentechnik sind solche Fragestellungen einer einwandfreien Beantwortung zumeist zugänglich. Die vorliegende Arbeit bedeutet einen Beitrag in dieser Richtung. Unter Heranziehung des radioaktiven Kohlenstoffes ^{14}C wurden Signierungen durchgeführt und eine so erhaltene Verbindung, die Phenylisobuttersäure auf ihr Verhalten im Organismus der Ratte untersucht.

II. PROBLEMSTELLUNG

In den meistverwendeten Antioxydantien treten als Seitenkette am Benzolring eine oder zwei tertiäre Butylgruppen auf. Das sehr wirksame BHA (t-Butyl-hydroxy-anisol), als Handelsprodukt ein Isomerenengemisch, zeigt z. B. folgende Struktur:



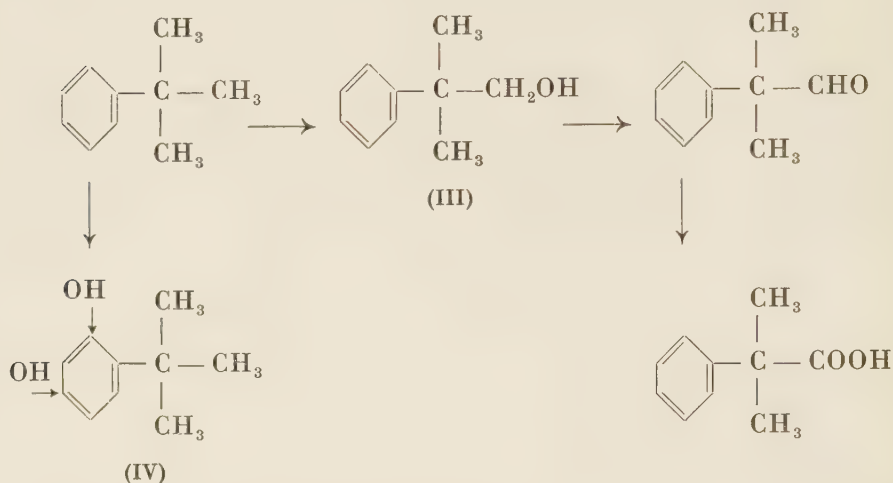
In etwas schwächer wirkenden Verbindungen als das BHA, wie 2,6-Di-t-butyl-4-methyl-phenol (I) und 2,6-Di-t-butyl-phenol (II) sind als Alkylgruppen zwei tertiäre Butylreste vorhanden.



Neben der OH-Gruppe, welche für die antioxydativen Eigenschaften in erster Linie verantwortlich ist, sind auch die Alkylreste wichtig, indem sie die oxydationshemmende Wirkung verstärken. Am deutlichsten ist diese Eigenschaft bei der tertiären Butylgruppe.

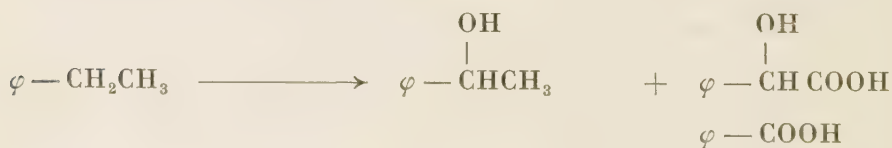
Um nun das Verhalten der t-Butylgruppe verfolgen zu können, wählen wir eine Modellverbindung, welche ausser dem Alkylrest keine weiteren

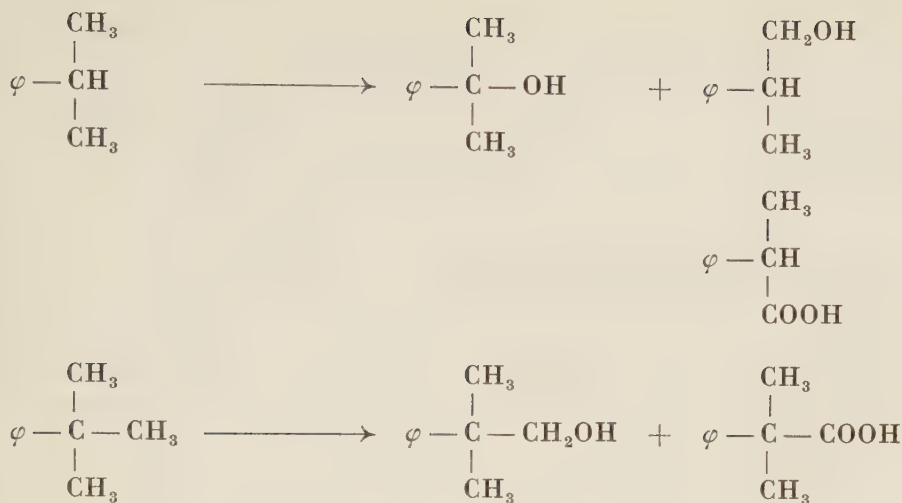
Substituenten aufweist. Das tertiäre Butylbenzol, welches diese Voraussetzungen erfüllt, könnte vom Organismus theoretisch unter Bildung verschiedener Oxydationsprodukte angegriffen werden:



Williams und *Mit.* (3) haben das Verhalten verschiedener aromatischer Kohlenwasserstoffe an Kaninchen untersucht. Letztere vermögen applizierte Fremdstoffe vielfach mit Glucuronsäure gepaart als Glucuronide auszuscheiden. Im Falle des t-Butylbenzols wurde der primär entstandene Alkohol (III) mehrheitlich in dieser Form im Harne angetroffen. Ob das bei anderen Tieren oder dem Menschen auch der Fall ist, wissen wir nicht. Andere Möglichkeiten wie Kernhydroxylierung (IV) oder Ringöffnung sind nicht ausgeschlossen.

Beim Kaninchen zeigt es sich, dass bei aromatischen Kohlenwasserstoffen ein Angriff auf das dem Kern am nächsten stehende C-Atom bevorzugt wird. Bei Substitution des α -C-Atoms, wie z. B. im Isopropylbenzol, ist die Bildung eines Carbinols eindeutig bevorzugt. Liegt ein tertiäres C-Atom vor, wird zum grössten Teil der als Intermediärprodukt entstandene primäre Alkohol als Glucuronid ausgeschieden.





Wir stellten nun die Frage, ob α -Phenylisobuttersäure als Oxydationsprodukt der tertiären Butylgruppe überhaupt entstehe und weiter abgebaut werden könne. Eine Decarboxylierung war nicht nachweisbar. Da bei allen vorliegenden Untersuchungen auf diesem Gebiete nur über einen Anteil von etwa 30–50% der theoretisch möglichen Ausbeuten Angaben vorliegen, ist das Verhalten einer tertiären Carboxylgruppe jedenfalls nicht geklärt.

Untersuchungen über die phenylsubstituierten Essigsäuren stammen zum Teil aus dem letzten Jahrhundert. Nach Verfütterung von Triphenylessigsäure (5) an Hunde und Kaninchen liessen sich 50–65% der eingesetzten Säure wieder auffinden. Beim Kaninchen wurde ferner Triphenylmethan in den Faeces gefunden. Diphenylessigsäure (5) konnte beim Menschen und Hund zu 10% als Glucuronid gefasst werden. Das biologische Verhalten der Phenylessigsäure wurde eingehend untersucht. Bereits *Salkowski* (6) fand bei Herbivoren Phenacetursäure. *Totani* (7) isolierte beim Huhn die Phenylacetylornithursäure, *Thierfelder* und *Sherwin* (8) stellten beim Menschen Phenylacetylglutamin und Phenylacetylglutaminharnstoff und *Sherwin* (9) im Affenharn auch Phenacetursäure fest. Die Ausbeuten betrugen aber nie mehr als 50% der theoretisch möglichen Mengen.

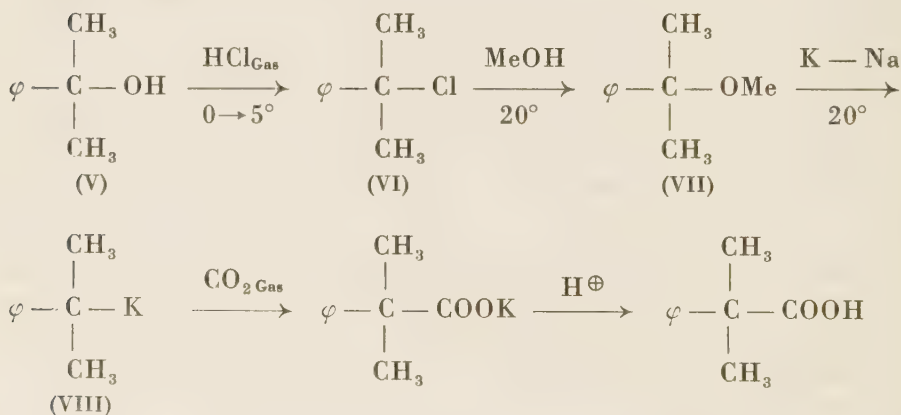
III. SYNTHETISCHER TEIL

A. Herstellung carboxyl-signierter α -Phenylisobuttersäure

Es galt abzuklären, welche der in der Literatur angegebenen präparativen Methoden zur Herstellung der Säure auch bei Anwendung kleinster Ausgangsmengen zu befriedigenden Ausbeuten führten. Ferner war es wichtig, die aktive Gruppe wenn möglich in der letzten Reaktionsstufe einzuführen.

Am zweckmässigsten erschienen Umsetzungen mit metall-organischen Verbindungen. Da bei der Reaktion von Isopropylbenzol mit Aethylolithium und K-Na-Legierung eine Reihe von Nebenprodukten entsteht, sodass die Ausbeute an α -Phenylisobuttersäure höchstens 20% beträgt, entschlossen wir uns für den Umsatz von Phenylisopropylkalium mit CO_2 .

Reaktionsschema:



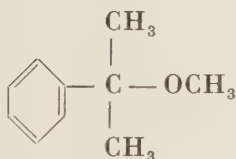
Dimethylphenylcarbinol (V) (10) diente als Ausgangsmaterial. Diesen tertiären Alkohol gewannen wir durch Umsetzung von Acetophenon mit Methylmagnesiumjodid, was sich günstiger erwies als die Behandlung von Phenylmagnesiumbromid mit Aceton (11) oder die Reaktion von Benzoesäuremethylester mit Methylmagnesiumjodid (12). Wenn vor der Zugabe

des Acetophenons zur *Grignard*-Verbindung möglichst viel des als Lösungsmittel verwendeten Aethers abdestilliert wurde, konnten die in der Literatur angegebenen Ausbeuten (13) erheblich verbessert werden. Als Nebenprodukt entsteht Isopropenylbenzol.

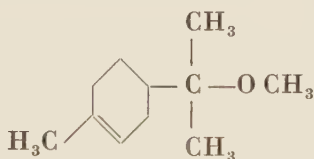
2-Phenyl-propyl-chlorid-2 (13) (14) (VI) wurde aus dem Carbinol durch Reaktion mit HCl-Gas erhalten.

Der Methyl-[2-Phenyl-propyl-2]-aether (14) (15) (VII) stellt eine intensiv nach Campher riechende, leicht bewegliche Flüssigkeit dar. Kurz vor der weiteren Umsetzung muss der Aether gereinigt werden, wozu eine mehrmalige Vakuumdestillation allein nicht genügt (siehe experimenteller Teil, Seite 22).

Es zeigt sich nun, dass rein aliphatische Aether von der Legierung bei diesen milden Bedingungen nicht angegriffen werden, auch wenn sie sich von tertiären Alkoholen ableiten (15). Am zentralen C-Atom muss mindestens eine Phenylgruppe sitzen, damit der Aether gespalten wird. Terpeneol-methylaether (X) wird nicht angegriffen, während Methyl-2-phenyl-propyl-2-aether (VII) leicht gespalten wird.



(VII)



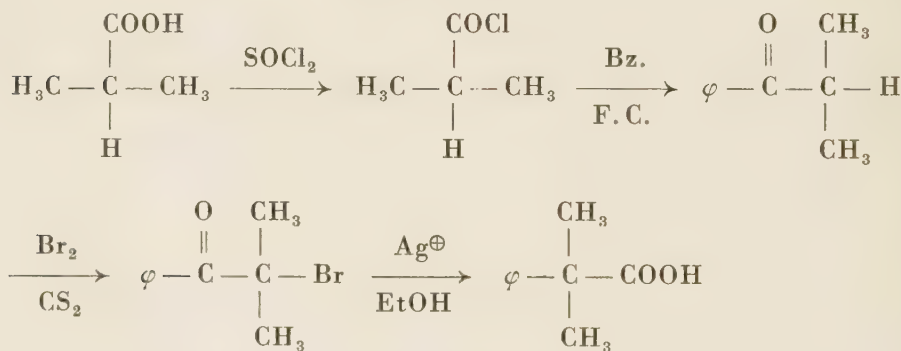
(X)

Diese letztere Verbindung war für uns von Bedeutung und wir benutzten die daraus entstehende kaliumorganische Verbindung (VIII) als Ausgangsmaterial für die Herstellung der signierten α -Phenylisobuttersäure. Die Darstellung von 2-Phenyl-propyl-kalium-2 (Phenylisopropylkalium) erfordert absolut trockenes Arbeiten. Ein gutes Präparat zeigt innerhalb weniger Minuten einen Farbumschlag nach rot. Tritt dieser Umschlag auch nach einstündiger Behandlung mit der Legierung nicht ein, so gibt man weiteres Kalium zu, wobei man aber 20% der zur Spaltung benötigten theoretischen Menge nicht überschreiten soll (15). Durch Vakuumdestillation werden nun sehr reine Produkte erhalten, die jedoch sofort zur Reaktion gebracht werden müssen. Ein 14 Tage in einer Ampulle eingeschlossener Aether ergab 20–30% weniger Ausbeute an α -Phenylisobuttersäure.

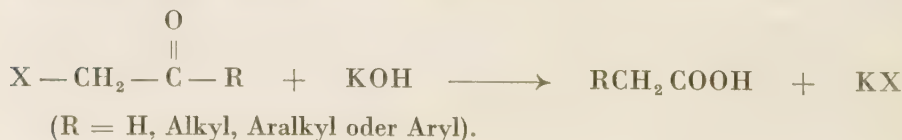
Die bei der Aetherreinigung zurückgebliebene Alkalilegierung wird vorsichtig mit Aethanol unter Stickstoff zersetzt. Zur Zersetzung kann man auch verdünnte Salzsäure oder t-Butanol verwenden.

Ziegler und Thielmann (16) fanden, dass gewisse Aether durch Natrium und Kalium, noch besser durch Kalium-Natrium-Legierung bereits bei Zimmertemperatur gespalten werden. Unter den von Schlenk (17) gearbeiteten Bedingungen liessen die Autoren die sehr reaktionsfähige Kalium-Natrium-Legierung auf Lösungen oder Suspensionen der Substanzen in absolutem Aether einwirken. Es bilden sich sofort die kaliumorganischen Verbindungen, welche intensiv gefärbt sind. So zeigt z. B. 2-Phenyl-propyl-kalium-2 tiefrote, Diphenylmethylkalium ziegelrote und Phenyl-dibenzylmethylkalium braunviolette Farbe. Die erhaltenen Kaliumverbindungen werden infolge ihrer Empfindlichkeit nicht isoliert, sondern jeweils durch Umsetzungsprodukte bestimmt.

Zur Gewinnung der inaktiven α -Phenylisobuttersäure wird nach der Herstellung des Phenylisopropylkaliums der Stickstoffstrom unterbrochen und CO_2 eingeleitet. Der Weg zum Vergleichspräparat führte über folgende Stufen:

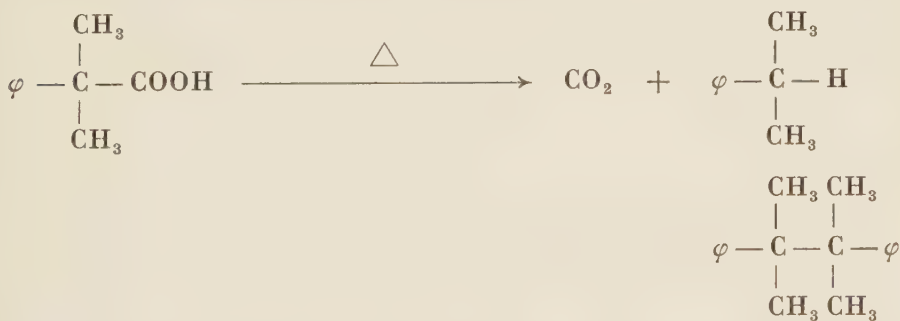


α -Halogenierte Ketone lassen sich in alkalischem Milieu in Carbonsäuren umlagern, wobei das Halogenatom abgespalten wird. Diese Reaktion wird nach ihrem Entdecker *Favorskii*-Umlagerung (18) genannt. Folgende allgemeine Reaktionsgleichung kennzeichnet die Umlagerung:



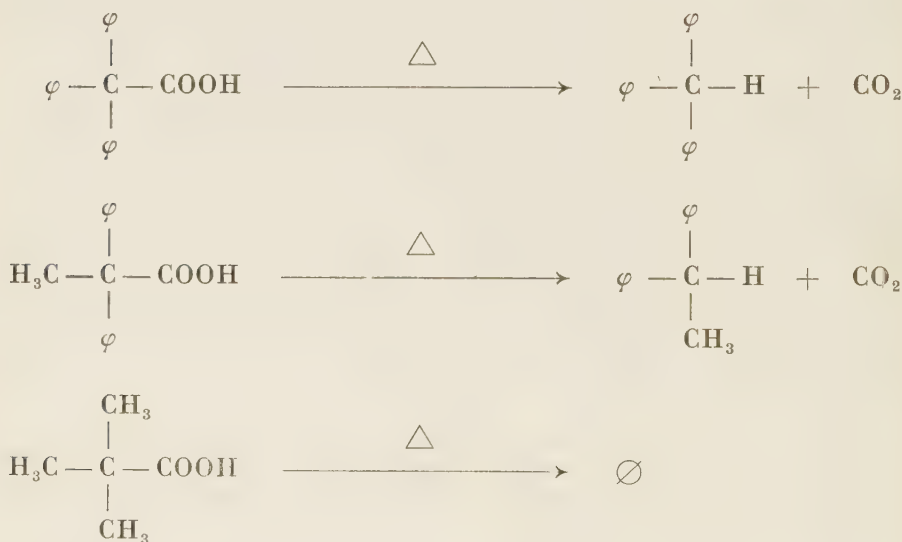
So konnten aus den entsprechenden Chlorketonen durch Einwirkung feingepulverten Ätzkalis Propion-, Butter- und Diphenylelessigsäure erhalten werden (19). Die Reaktion ist auch bei alicyclischen und aromatischen Verbindungen (20) anwendbar. Interessant ist die Tatsache, dass α -Bromisobutyrophenon, welches in unserem Falle umgelagert wurde, bei Behandlung mit KOH nur α -Hydroxyisobutyrophenon ergibt, während erst in einer wässrig-alkoholischen Lösung von Silbernitrat die Umlagerung in Phenylisobuttersäure (21) erfolgt. Zahlreich sind die Arbeiten, welche sich mit den theoretischen Grundlagen der *Favorskii*-Reaktion beschäftigen. *Jacquier* (22) und *Loftfield* (23) seien als Autoren von Übersichten genannt. Da die von uns mittels der Umlagerung hergestellte α -Phenylisobuttersäure nur als Vergleichspräparat diente, verzichteten wir auf eine Aufarbeitung der Nebenprodukte. Aus diesem Grunde ist es nicht möglich, Bemerkungen und Feststellungen zur Theorie der Reaktion zu machen. Immerhin sei noch auf die Arbeit von *Burr* und *Dewar* (24) hingewiesen.

α -Phenylisobuttersäure scheint sich beim Erhitzen an freier Luft, sowie unter Hochvakuum bei Temperaturen im Bereiche von 100° in geringem Masse zu zersetzen. Es konnten nämlich kleine Mengen dickflüssiger Öle isoliert werden, die nicht erstarrten, keinen ungesättigten Charakter aufweisen und in gesättigter Bicarbonat-Lösung unlöslich waren. Bei entsprechender Behandlung eines signierten Präparates konnte festgestellt werden, dass diese vermeintlichen Zersetzungsprodukte inaktiv sind. Die signierte Carboxylgruppe liegt folglich nicht mehr vor. Es wäre nun möglich, die Bildung von Isopropylbenzol (Cumol) (XI) und 2,3-Dimethyl-2,3-diphenylbutan (XII) anzunehmen.



Wir versuchten nun durch Animpfen der kleinen Flüssigkeitsmengen mit dem substituierten Butan eine Kristallisation hervorzurufen. Dies gelang nicht, sodass das Zersetzungsgemisch nicht identifiziert werden konnte.

Dieses Verhalten der α -Phenylisobuttersäure ist nicht ohne weiteres zu erwarten, da weder der unsubstituierte aromatische Ring, noch die beiden α -ständigen Methylgruppen eine Decarboxylierung fördern. Auch sterische Gründe scheinen bei der vorliegenden Verbindung nur geringen Einfluss zu haben. Wohl weiss man, dass Triphenylelessigsäure (XIII) (25) sich bereits unter dem Schmelzpunkt teilweise unter Bildung des entsprechenden Kohlenwasserstoffes zersetzt. Methyl-diphenylelessigsäure (XIV) (26) zeigt ein ähnliches, wenn auch abgeschwächtes Verhalten. Bei diesen beiden Verbindungen ist allerdings die Raumbeanspruchung der drei, resp. zwei Phenylgruppen zu berücksichtigen. Die Trimethylelessigsäure (Pivalinsäure) (XV) schliesslich ist sehr beständig und gegen eine thermische Zersetzung weitgehend unempfindlich.



Die Signierung erfolgte im Hochvakuum. Bei der Entwicklung des CO_2 aus BaCO_3 war es vorteilhaft, das Carbonat in die Schwefelsäure zu streuen. Damit war ein Aufschäumen der Lösung und das Zerblasen des Carbonates in den Rechen zu vermeiden. Der von uns verwendete Hochvakuumrechen war eine einfachere Ausführung der von *Tolbert* beschriebenen Apparatur (27).

Vakuum und Feuchtigkeitsausschluss müssen während der Umsetzung stets sorgfältig überprüft werden. Die Signierung darf von der Aetherspaltung an nie unterbrochen werden, da die kaliumorganische Verbindung

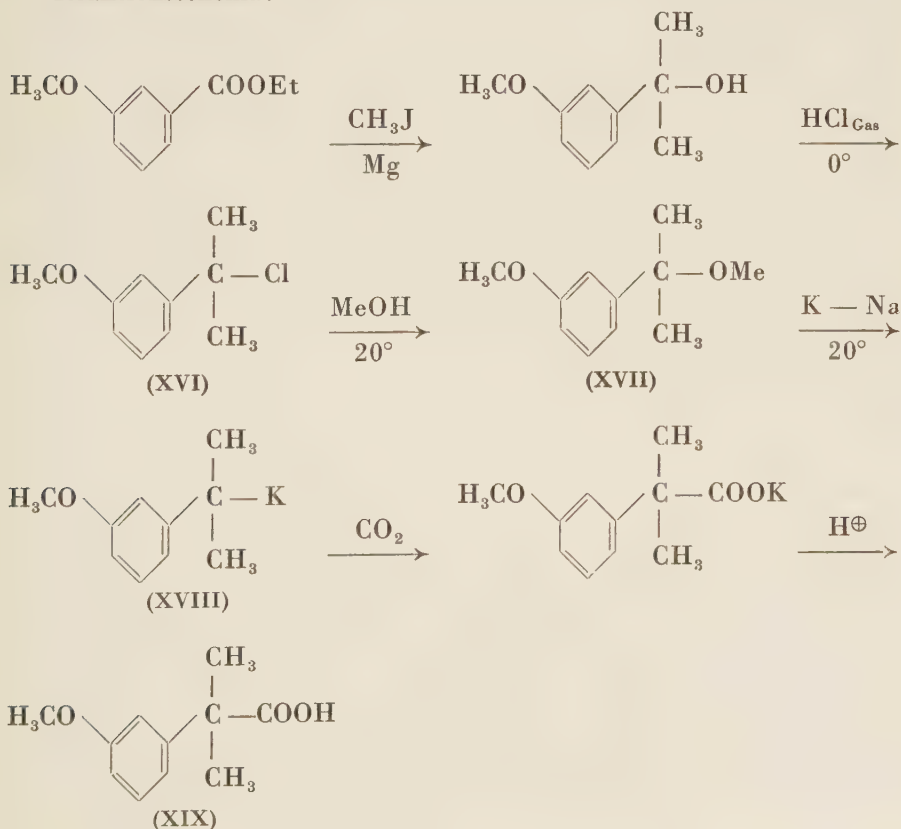
längere Zeit nicht beständig ist und auch der als Lösungsmittel verwendete abs. Diaethylaether in geringem Masse durch die K-Na-Legierung angegriffen wird.

B. Herstellung carboxyl-signierter α -[m-Methoxy-phenyl]-isobuttersäure

Auf dem gleichen Reaktionsweg, der uns zur signierten Phenylisobuttersäure führte, gewannen wir signierte α -[m-Methoxy-phenyl]-isobuttersäure.

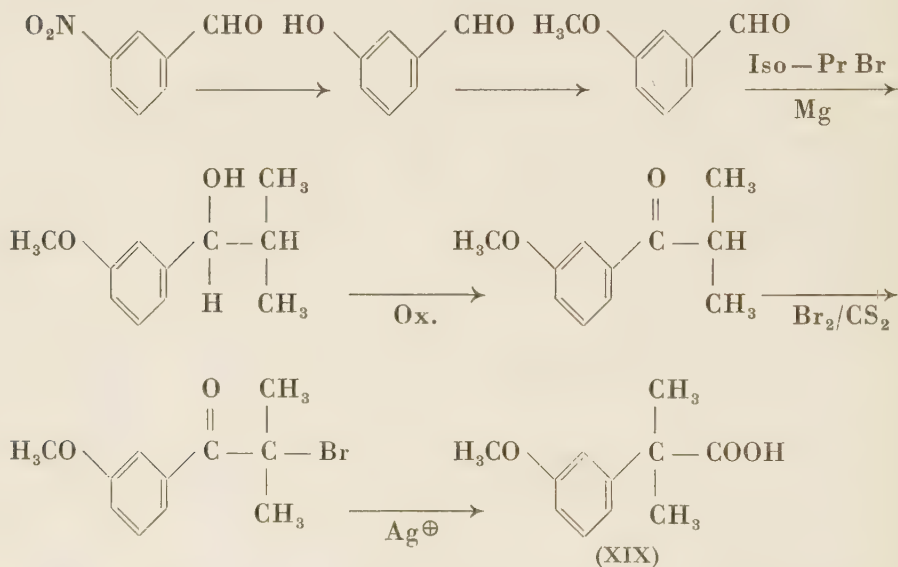
In einer Anzahl sehr wirksamer und gut verträglicher synthetischer Antioxydantien ist der tertiären Seitenkette eine Methoxy-Gruppe in m-Stellung benachbart (28). Damit gewinnt die α -[m-Methoxy-phenyl]-isobuttersäure als mögliches biologisches Oxydationsprodukt Bedeutung.

Reaktionsschema:



Das Chlorid (XVI) ist ebenso unbeständig wie die entsprechende unsubstituierte Verbindung. Die Veraetherung zum Methylaether (XVII) erfolgt leicht bei Zimmertemperatur, wobei jedoch weder eine sichtbare Reaktion, noch Wärmeentwicklung festzustellen sind. Die Bildung der kaliumorganischen Verbindung (XVIII) benötigt eine etwas längere Zeitperiode als beim Phenylisopropylkalium. In der Farbe sind die beiden Verbindungen voneinander nicht zu unterscheiden. Dass unter den von uns angewandten Bedingungen neben dem tertiären Aether auch die Aetherbindung des Anisols durch K-Na-Legierung gespalten wird, konnte nicht nachgewiesen werden.

Das entsprechende Vergleichspräparat gewannen wir wiederum mittels *Favorskii-Umlagerung*:



Die Umlagerung mit Silbernitrat beansprucht eine etwas längere Zeitdauer als beim α -Bromisobutyrophenon. α -[m-Methoxy-phenyl]-isobuttersäure (XIX) lässt sich ohne Anzeichen einer Zersetzung erhitzen und im Hochvakuum sublimieren.

Die spezifische Aktivität bei der im Sinne eines Vorversuches durchgeführten Synthese von α -[m-Methoxy-phenyl]-isobuttersäure betrug $2,0 \cdot 10^3$ c/Min. Die erhaltene Menge war für eine biologische Prüfung leider zu gering.

C. Experimenteller Teil

Alle Smp. sind auf dem Kofler-Block bestimmt und korrigiert. Fehlergrenze in hier benützter Ausführung bis 150° etwa $\pm 2^\circ$. Die Sdp. sind unkorrigiert.

1. Dimethyl-phenylcarbinol (2-Phenyl-propanol-2)

Die von *Béhal* und *Tiffeneau* (30) angegebene Vorschrift wurde wie folgt abgeändert: 48 g Magnesium werden in einem 3-Halskolben von 1000 ml mit einer Spur Jod angeätzt und mit 100 ml abs. Aether bedeckt. Unter Rühren und Eiskühlung lässt man zur Herstellung der Grignard-Verbindung während 1 Std. 125 ml frisch destilliertes Methyljodid in 250 ml abs. Aether zutropfen. Die Reaktion tritt sofort ein. Anschliessend werden unter Rühren und Eiskühlung während 2 Std. 120 ml Acetophenon in 100 ml abs. Aether zugegeben. Das Reaktionsgemisch wird 2 Std. bei Zimmertemperatur stengelassen, dann mit Eiswasser zersetzt und mit Aether extrahiert. Die aetherische Lösung wird zur Entfernung von Jod mit 5% Thiosulfat-Lösung geschüttelt, mit Wasser gewaschen und über MgSO_4 getrocknet. Nach Abdestillieren des Aethers erhält man ein schwach gelb gefärbtes Öl, Sdp. 84,5–85,5°/10 Torr (Badtemperatur 115–125°). Ausbeute: 85 g (63%) eines farblosen Öles, welches nach einigem Stehen bei 20° fest wird. Smp. 41–42°. Das Analysenpräparat wurde 4 Std. bei 20° und 0,01 Torr über P_2O_5 getrocknet.

$\text{C}_9\text{H}_{12}\text{O}$	Ber.	C 79,37	H 8,88%
	Gef.	C 79,20	H 8,86%

2. 2-Phenyl-propyl-chlorid-2

10 g Phenyldimethylcarbinol werden in einem 3-Halskolben von 250 ml in 50 ml abs. Aether gelöst. Zur sofortigen Entfernung des bei der Reaktion gebildeten Wassers werden 2–3 g MgSO_4 zugegeben. Nun wird unter Rühren und Eiskühlung trockenes HCl -Gas eingeleitet (31). Man filtriert vom MgSO_4 ab, wäscht die aetherische Lösung mit 2% KHCO_3 -Lösung, der Eisstückchen beigefügt werden, dann mit Wasser und trocknet über MgSO_4 . Der Aether wird bei Zimmertemperatur am Wasserstrahlvakuum bis zur Gewichtskonstanz des Rückstandes entfernt. Wir erhalten 10 g eines farblosen, dünnflüssigen Öles, was einer Ausbeute von 88% entsprechen würde.

Infolge der leichten HCl-Abspaltung, unter Bildung des entsprechenden Olefines, empfiehlt es sich, die Verbindung sofort weiterzuverarbeiten. Eine Reinigung durch Destillation ist ohne Zersetzung nicht möglich.

3. Methyl-2-phenyl-propyl-2-aether

Die Herstellung des Aethers erfolgt weitgehend nach den Angaben von *Ziegler und Schnell* (32).

10 g 2-Phenyl-propyl-chlorid-2 werden in 50 ml abs. Methanol gelöst. Dabei ist ein deutlicher HCl-Geruch wahrnehmbar, sowie eine leichte Erwärmung. Man lässt das Reaktionsgemisch 12 Std. bei Zimmertemperatur stehen. Nach Schütteln mit 5% KHCO_3 -Lösung wird in Aether aufgenommen, mit Wasser neutral gewaschen und über MgSO_4 getrocknet. Nach Abdestillieren des Aethers bleibt ein angenehm nach Campher und Pfefferminz riechendes, dünnflüssiges Öl zurück, welches im Vakuum unter N_2 destilliert wird. Sdp. $68,5-70,5^\circ/12$ Torr. Ausbeute: 8,4 g (86%). Das Analysenpräparat wurde 4 Std. bei Zimmertemperatur bei 0,01 Torr über P_2O_5 getrocknet.

$\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{O}$	Ber.	C 79,95	H 9,39%
	Gef.	C 79,99	H 9,40%

Auch nach mehrmaliger Destillation zeigt der Aether gegen Kaliumpermanganat schwach ungesättigten Charakter, ferner ist immer mit der Anwesenheit von Phenyl-dimethylcarbinol zu rechnen. Zur Erhaltung eines reinsten Präparates wird der Aether nach den Angaben von *Wittig* (33) gereinigt.

4. 2-Phenyl-propyl-kalium-2 (Phenylisopropylkalium)

3 g Kalium werden mit 1 g Natrium unter abs. Xylol in einem 100 ml 3-Halskölbchen geschmolzen (33). Nach dem Abkühlen wird möglichst viel Xylol herauspipettiert. Man gibt dreimal hintereinander 20 ml abs. Aether zu, pipettiert die jeweiligen Mischungen aus Xylol und Aether heraus und überschichtet schliesslich die flüssige Alkalimetall-Legierung mit 30 ml Aether. Innerhalb einer Minute versetzt man unter kräftigem Rühren mit 5 g Methyl-[2-phenyl-propyl-2]-aether, gelöst in 20 ml abs. Aether. Die Lösung färbt sich sofort tiefrot, was beweist, dass sich die kaliumorganische Verbindung gebildet hat. Die Umsetzung erfolgt ohne feststellbare Wärmetwicklung. Man lässt während 1 Std.iterrühren.

Die gesamte Reaktion erfolgt unter Feuchtigkeitsausschluss und im N₂-Strom, wobei der Stickstoff durch Pyrogallol-Lösung, konz. H₂SO₄ und ein P₂O₅-Rohr geleitet wird.

5. *α-Phenylisobuttersäure*

Um die Isolierung des Phenylisopropyl-kaliums zu umgehen, wird im Anschluss an seine Darstellung sofort trockenes CO₂ eingeleitet. Die Lösung entfärbt sich momentan. Man lässt 12 Std. stehen, wobei wiederum Rotfärbung auftritt, die nach erneutem Einleiten von CO₂ sofort verschwindet. Unter Stickstoff wird der Kölbcheninhalt mit 10 ml abs. Alkohol und anschliessend 10 ml konz. HCl versetzt, womit die überschüssige Kalium-Natrium-Legierung zersetzt wird.

Das Arbeiten im inerten Gasstrom, sowie unter Feuchtigkeitsausschluss ist nun nicht mehr notwendig. Das Reaktionsgemisch wird mit 200 ml Wasser verdünnt und mit Aether extrahiert. Die wässrige Phase wird verworfen. Die aetherische Lösung wird mit 5–6 25 ml-Portionen gesättigter KHCO₃-Lösung ausgezogen. Ansäuern der Bicarbonat-Lösung und extrahieren mit Aether. Der Aetherauszug wird mit Wasser neutral gewaschen und über MgSO₄ getrocknet. Nach Abdestillieren des Aethers erhält man einen rotbraun gefärbten, dickflüssigen Rückstand, welcher nach einigen Stunden Stehenlassen im Kühlraum teilweise kristallin wird. Durch Sublimation im Hochvakuum bei 0,005 Torr und einer Wasserbadtemperatur von 35–45° erhält man blassgelbe, feine Nadeln von *α*-Phenylisobuttersäure. Smp. 77–78°. Ausbeute: 3,2 g (59%). Zweimaliges Umkristallisieren aus Pentan-Alkohol ergibt farblose Nadeln, die zwischen 78 und 79,5° schmelzen.

C ₁₀ H ₁₂ O ₂	Ber.	C 73,14	H 7,37%
	Gef.	C 73,19	H 7,34%

6. *m-Methoxybenzoesäure*

Herstellung nach den Angaben von *Graebe* (34).

7. *m-Methoxybenzoesäure-aethylester*

Herstellung nach den Angaben von *Auvers* (35).

8. Dimethyl-[m-Methoxy-phenyl]-carbinol (2-[m-Methoxy-phenyl]-propanol-2)

12,15 g Magnesium werden mit 170 ml abs. Aether überdeckt. Unter Wasserkühlung erfolgt Zugabe eines Gemisches von 35 ml frisch destilliertem Methyljodid und 85 ml abs. Aether. Nach Abklingen der Reaktion wird möglichst viel Aether abdestilliert. Unter Eiskühlung und Rühren wird die schwarzgrüne, dickflüssige *Grignard*-Verbindung mit 44 ml m-Methoxy-benzoessäure-aethylester, gemischt mit 40 ml abs. Aether, versetzt. Das Reaktionsgemisch wird 4 Std. unter Rückfluss erwärmt. Man zersetzt die Reaktionsmasse mit 500 g zerkleinertem Eis, 50 g NH_4Cl und 100 ml Wasser. Es wird mit Aether extrahiert, dieser abdestilliert und der Rückstand mit 100 ml 15% wässriger KOH-Lösung während 3 Std. unter Rückfluss erhitzt. Ausziehen mit Aether, mit Wasser neutral waschen und über MgSO_4 trocknen. Nach Abdestillieren des Aethers erhalten wir das Carbinol als dickflüssiges, angenehm riechendes Öl, welches bei Zimmertemperatur in feinen, langen Nadeln kristallisiert. Durch zweimalige Vakuumdestillation erfolgt Reinigung des Alkohols. Sdp. 123,5–125°/11 Torr. Ausbeute: 28,6 g (69%).

$\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{O}_2$	Ber.	C 72,26	H 8,49%
	Gef.	C 72,06	H 8,47%

Aus der wässrigen KOH-Lösung können ungefähr 2 g m-Methoxy-benzoessäure als Verseifungsprodukt des unumgesetzten m-Methoxy-benzoessäure-aethylesters isoliert werden. Smp. 101–102°.

9. 2-[m-Methoxy-phenyl]-propyl-chlorid-2

Analoge Herstellung wie 2-Phenyl-propyl-chlorid-2.

Nach Entfernen des Aethers am Wasserstrahlvakuum und bei 20° erhalten wir 11 g (90%) eines farblosen, dünnflüssigen Öles.

Infolge der raschen Olefinbildung unter Abspaltung von HCl muss die Verbindung sofort weiterverarbeitet werden. Eine Destillation des Produktes ohne Zersetzung ist nicht möglich.

Das Analysenpräparat wurde 6 Std. bei 0,01 Torr und 20° über P_2O_5 getrocknet.

$\text{C}_{10}\text{H}_{13}\text{OCl}$	Ber.	C 65,04	H 7,10	Cl 19,20%
	Gef.	C 64,93	H 6,92	Cl 19,35%

10. *Methyl-[2-m-Methoxy-phenyl]-propyl-2 aether*

11 g des Chlorides werden mit 60 ml abs. Methanol versetzt. Man lässt das Gemisch, das keine sichtbare Reaktion zeigt, während 48 Std. bei Zimmertemperatur stehen. Nach Versetzen mit 120 ml Wasser wird mit Aether extrahiert. Die aetherische Lösung wird mit 2% KHCO_3 -Lösung gewaschen, durch mehrmaliges Schütteln mit Wasser neutralisiert und über MgSO_4 getrocknet. Nach Abdestillieren des Aethers erhält man ein dünnflüssiges, farbloses Öl von angenehmem, campherartigem Geruch. Ausbeute: 7,5 g eines bei 12 Torr zwischen 106–107,5° übergehenden Destillates. Die Vakuumdestillation wurde in Stickstoffatmosphäre ausgeführt.

$\text{C}_{11}\text{H}_{16}\text{O}_2$	Ber.	C 75,30	H 8,71%
	Gef.	C 73,32	H 8,71%

Beilstein-Test negativ.

11. *α -[m-Methoxy-phenyl]-isobuttersäure*

In einem 100 ml Dreihalskölbchen werden 3 g Kalium und 1 g Natrium unter absolutem Xylol und im Stickstoffstrom geschmolzen. Nach dem Abkühlen wird soweit als möglich das Lösungsmittel entfernt und durch 30 ml absoluten Aether ersetzt.

Man gibt nun 5 g Methyl-[2-m-Methoxy-phenyl]-propyl-2-aether, gelöst in 50 ml abs. Aether hinzu und lässt kräftig rühren. Nach 2 Stunden ist die Aetherspaltung vollzogen, wobei sich die Lösung tiefrot färbt. Es wird nun trockenes CO_2 eingeleitet, was sofortige Entfärbung der Lösung zur Folge hat. Während 12 Std. lässt man das Reaktionsgemisch stehen, wobei erneut Rotfärbung, allerdings in schwächerem Ausmasse, auftritt. Nach nochmaligem Einleiten von CO_2 wird mit 20 ml Alkohol, anschliessend mit 10 ml konz. Salzsäure versetzt. Bis zu diesem Vorgang erfolgten alle Reaktionsschritte im inerten Gasraum. Man verdünnt mit 100 ml Wasser und extrahiert mit Aether. Die mit Wasser neutral gewaschene aetherische Phase wird mit gesättigter Bicarbonat-Lösung ausgezogen. Nach Ansäuern der Bicarbonat-Lösung mit verdünnter Schwefelsäure wird die freigesetzte Carbonsäure mit Aether extrahiert. Neutral waschen und Trocknen über MgSO_4 . Aether am Wasserstrahlvakuum entfernen. Den gelbgefärbten, halbflüssigen Rückstand unterwarfen wir der Hochvakuumsublimation. Bei 0,005 Torr und einer Ölbadtemperatur von 85 bis 92° erhielten wir 1,2 g (60%) hellgelbe Kristalle von einem Schmelzpunkt

zwischen 54–56,5°. Nach dreimaligem Umkristallisieren aus Pentan stieg der Schmelzpunkt der nun farblos gewordenen Kristalle auf 58,5–59,5°. Der Mischschmelzpunkt mit einem Vergleichspräparat lag zwischen 58 bis 59,5°.

$C_{11}H_{14}O_3$	Ber.	C 68,02	H 7,27%
	Gef.	C 68,14	H 7,24%
1 · — OCH ₃	Ber.	7,74%	
	Gef.	7,90%	

12. Isobutyrylchlorid

Die Angaben von *Smith* und *Lewcock* (36) erfuhren folgende Änderungen: Zu 450 ml Isobuttersäure gibt man während 3 Std. unter Rühren und Erwärmen auf 50° 460 ml frisch destilliertes Thionylchlorid. Nach der Zugabe des Thionylchlorids wird während 1 Std. unter Rückfluss erhitzt. Sdp. 89–91°. Ausbeute: 431 g (81%).

13. Isobutyrophenon

Hergestellt nach den Angaben von *Schmidt* (37) und *Leuchs* (38).

14. α -Brom-isobutyrophenon

Zu 80 ml Isobutyrophenon in 100 ml Schwefelkohlenstoff werden unter kräftigem Rühren und Eis-Wasserkühlung innerhalb 1½ Std. 25,5 ml Brom zugetropft. Nach Abklingen der HBr-Entwicklung wird das Lösungsmittel am Wasserstrahlvakuum entfernt.

Den in 200 ml Aether aufgenommenen Rückstand schüttelt man mehrere Male mit Thiosulfatlösung, wäscht mit Wasser neutral und trocknet über MgSO₄. Nach Abdestillieren des Aethers erhalten wir ein schwarzbraun gefärbtes Öl, welches der Vakuumdestillation im Stickstoffstrom unterworfen wird. Zwischen 117–118°/10 Torr destilliert das α -Brom-isobutyrophenon als blassgelbe Flüssigkeit. Ausbeute: 55 g (48%).

15. α -Phenylisobuttersäure

Cope und *Graham* (21) beschreiben eine Methode zur Darstellung von α -Phenylisobuttersäure aus α -Bromisobutyrophenon, welche wir in einigen Punkten abänderten: 4 g Silbernitrat werden in 50 ml Alkohol und 20 ml

Wasser gelöst. Nach der Zugabe von 5 ml α -Brom-isobutyrophenon scheidet sich sofort Silberbromid ab. Während 15 Minuten wird die Lösung zum Sieden erhitzt und während weiteren 30 Minuten zwischen 50–60° gehalten. Man filtriert das Silberbromid ab. Die Menge des getrockneten Halogenides betrug 3,95 g (96%). Die wässerig-alkoholische Lösung wird mit 200 ml Wasser verdünnt und mit Aether ausgezogen. Der Aether wird mit gesättigter KHCO_3 -Lösung extrahiert, der Extrakt mit verdünnter Schwefelsäure angesäuert und erneut mit Aether ausgeschüttelt. Mit wenig Wasser neutral waschen und über MgSO_4 trocknen. Nach dem Abdestillieren des Aethers bleibt als Rückstand ein orangegelbes, dickflüssiges Öl zurück, welches im Hochvakuum sublimiert wird. Bei 0,005 Torr und einer Ölbadtemperatur von 70° erhält man 1,4 g (39%) α -Phenylisobuttersäure, die bei 78–79° schmilzt und mit einem Präparat, welches über die kaliumorganische Verbindung hergestellt wurde, einen Mischschmelzpunkt von 78–79° ergab.

Das Analysenpräparat wurde aus Pentan umkristallisiert und im Vakuum über P_2O_5 getrocknet.

$\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{O}_2$	Ber.	C 73,14	H 7,37%
	Gef.	C 73,03	H 7,38%

16. *m*-Methoxy-benzaldehyd

In einer 2000 ml Flasche werden 120 g *m*-Hydroxybenzaldehyd, welcher aus *m*-Nitrobenzaldehyd (25) gewonnen wurde, mit 550 ml 10% Kalilauge und 95 ml Dimethylsulfat zusammengegeben. Man lässt 1 Std. auf der Schüttelmaschine schütteln. Es erfolgt erneute Zugabe von 200 ml 10% Kalilauge und 20 ml Dimethylsulfat. Die Lösung wird während weiteren 3 Std. geschüttelt und anschliessend mit Aether extrahiert. Die aetherische Lösung wäscht man mit 0,05-n Sodalösung, darauf mit Wasser und trocknet mit Hilfe von MgSO_4 . Nach Abdestillieren des Aethers erhält man einen öligen, braungefärbten Rückstand, welcher der Vakuumdestillation unterworfen wird. *m*-Methoxy-benzaldehyd destilliert bei 10 Torr zwischen 102–103,5° als dünnflüssiges, farbloses Öl. Ausbeute: 94 g (70%).

17. *m*-[Methoxy-phenyl]-isopropylcarbinol

In einem 500 ml Dreihalskolben, welcher mit Rührer, Tropftrichter und Kühler versehen ist, werden 14,8 g Magnesium mit wenig Jod angeätzt. Nach dem Erkalten überschichtet man mit 30 ml abs. Aether. Inner-

halb zweier Stunden gibt man eine Lösung, die aus 46 ml Isopropylbromid und 30 ml abs. Aether besteht, zum Magnesium. Nach dem Abklingen der Reaktion wird 1 Std. auf dem Wasserbad erwärmt. Unter Eis-Kochsalz-Kühlung versetzt man die *Grignard*-Verbindung mit 60 ml frisch destilliertem m-Methoxy-benzaldehyd, gelöst in 100 ml abs. Aether. Die Zugabe erfordert 45 Min. Von Zeit zu Zeit wird das Reaktionsgemisch gut durchgerührt. Man zersetzt durch Eingiessen in Eiswasser. Die durch Extraktion gewonnene Aetherphase wird mit kleinen Portionen von insgesamt 25 ml gesättigter Sodalösung geschüttelt, mit Wasser neutral gewaschen und über MgSO_4 getrocknet. Durch Abdestillieren des Aethers wird ein orange-braunes Öl erhalten, welches man der Vakuumdestillation unterwirft. Das Carbinol wird bei 10 Torr und 160–165° als farblose Flüssigkeit gewonnen. Ausbeute: 50 g (60%).

18. m-Methoxy-isobutyrophenon

In einem 500 ml Dreihalskolben, versehen mit Rührer, Tropftrichter und Kühler, werden 220 ml Wasser, 18 ml konz. Schwefelsäure und 48 g Kaliumdichromat vorgelegt. Unter kräftigem Rühren erfolgt nun Zugabe von 50 ml m-[Methoxy-phenyl]-isopropyl-carbinol, wobei sofort starke Erwärmung und Dunkelfärbung des Reaktionsgemisches auftritt. Man extrahiert mit Aether. Die aetherische Lösung wird mit 1-n Natronlauge geschüttelt, mit Wasser neutral gewaschen und über MgSO_4 getrocknet. Nach Abdestillieren des Aethers werden 46 g eines hellorange gefärbten, dünnflüssigen Öles erhalten. Die Gesamtmenge dieses Öles löst man in einem Gemisch von 450 ml Alkohol und 45 ml Essigsäure. Man gibt 50 g Girard T zu, hält 2½ Std. unter Rückfluss, lässt abkühlen und versetzt mit 36 g Soda, gelöst in 600 ml Eiswasser. Durch Extraktion mit Aether erfolgt Abtrennung der Neutralkörper. Die wässrig-alkoholische Phase wird mit konz. Schwefelsäure angesäuert und 12 Std. bei 20° stehengelassen. Man zieht mit Aether aus, wäscht mit Wasser und trocknet über MgSO_4 . Nach Abdestillieren des Aethers bleiben 40 g eines gelb gefärbten Öles zurück. m-Methoxy-isobutyrophenon destilliert bei 11 Torr zwischen 130–132,5°. Ausbeute: 30 g (60%).

An Neutralkörpern erhielt man 8,3 g, welche nochmals einer Girard-Trennung unterworfen wurden. Es konnten jedoch keine Keton-Anteile mehr isoliert werden. Auf eine Bestimmung der Neutralkörper wurde verzichtet.

19. *m*-Methoxy- α -brom-isobutyrophenon

10 ml *m*-Methoxy-isobutyrophenon werden in einem 250 ml Dreihalskolben in 40 ml Schwefelkohlenstoff gelöst. Unter Rühren und Kühlung (Eis-Kochsalzmischung) gibt man eine Mischung, bestehend aus 2,8 ml Brom in 20 ml Schwefelkohlenstoff zu. Bei Beginn der Reaktion wird die zugetropfte Bromlösung sofort entfärbt. Nach Abschluss der Bromierung lässt man unter Eiskühlung während 2 Std. weiterrühren. Die Reaktionslösung wird mit 10% Thiosulfatlösung geschüttelt, mit Wasser halogenfrei gewaschen und über MgSO_4 getrocknet. Das braune Öl, welches nach Abdestillieren des Aethers zurückbleibt, wird der Vakuumdestillation im Stickstoffstrom unterworfen. Bei 13 Torr erhalten wir *m*-Methoxy- α -brom-isobutyrophenon als blassgelbes, dünnflüssiges Öl, welches zwischen 156 bis 159° übergeht. Ausbeute: 7,0 g (54%).

Im Destillierkolben finden sich 1,6 g eines schwarzen, harzartigen Rückstandes, welcher bei einem Aufschluss nach Lassaigne einen positiven Test auf Brom zeigt.

20. α -[*m*-Methoxy-phenyl]-isobuttersäure

3,0 ml *m*-Methoxy- α -bromisobutyrophenon werden in 35 ml Aethanol und 8 ml Wasser gelöst und mit 1,8 g fein gepulvertem Silbernitrat versetzt. Man erhitzt während 30 Min. zum Sieden. Nach etwa 5 Min. ist eine deutliche Ausfällung von Silberbromid festzustellen. Während weiteren 20 Min. hält man das Reaktionsgemisch zwischen 50–60°. Nach dem Erkalten wird das ausgefallene Silberbromid abfiltriert, getrocknet und gewogen. Wir erhielten 1,8 g des Silberhalogenids, was einem Umsetzungsgrade von 93,5% entspricht.

Das mit 100 ml Wasser verdünnte Filtrat wird mit Aether extrahiert. Die aetherische Lösung schüttelt man zehn Mal mit 10 ml Portionen gesättigter Sodalösung, stellt letztere mit verdünnter Schwefelsäure kongosauer und nimmt die freigesetzte Säure in Aether auf. Der mit Wasser neutral gewaschene Aether wird über MgSO_4 getrocknet und am Wasserstrahlvakuum entfernt. Wir erhalten gelbgefärbte Kristalle, welche der Hochvakuumsublimation unterworfen werden. Bei 0,005 Torr und einer Ölbadtemperatur von 92° erhielten wir 0,9 g (45%) farblose und geruchlose Kristalle, die zwischen 55–56,5° schmelzen. Nach zweimaligem Umkristallisieren aus Pentan zeigte die Substanz einen Schmelzpunkt von

58,5–59,5°. Nach dem Trocknen im Vakuum über P_2O_5 und bei einer Wasserbadtemperatur von 40° erhielten wir folgende Analysenwerte:

$C_{11}H_{14}O_3$	Ber.	C 68,02	H 7,27%
	Gef.	C 67,94	H 7,29%
$1 \cdot OCH_3$	Ber.	7,74%	
	Gef.	7,90%	

21. 2,3-Dimethyl-2,3-diphenyl-butan

a) Zu Phenyl-isopropyl-kalium, hergestellt aus 5 ml Methyl-2-phenylpropyl-2-aether gibt man solange 2-Phenyl-propyl-2-chlorid, bis keine Rotfärbung mehr auftritt. Die überschüssige Legierung wird auf dem üblichen Wege zersetzt. Aus dem gewaschenen und getrockneten Aether-Extrakt liessen sich gelbbraune Nadeln isolieren. Mehrmalige Umkristallisation aus Alkohol ergab ein farbloses Produkt von 2,4 g (30%). Smp.: 119°.

b) In einem Tropftrichter, der oben mit einem Kühler versehen ist, werden 1,5 g Magnesium mit 10 ml abs. Aether bedeckt. Man gibt durch den Kühler langsam und unter stetem Schütteln 4,0 ml frisch destilliertes Methyljodid, gemischt mit 30 ml abs. Aether.

Aus dem Tropftrichter wird die *Grignard*-verbindung zu 10 ml 2-Phenyl-propyl-2-chlorid gegeben. Es tritt eine ziemlich heftige Reaktion ein, sodass während der Zugabe stets mit Eis-Kochsalz-Gemisch gekühlt werden muss. Der abgeschiedene gelbgrüne Festkörper wird in Eiswasser zersetzt und mit Aether extrahiert. Der Aether wird mit 5% Thiosulfatlösung und Wasser gewaschen.

Nach Abdestillieren des über $MgSO_4$ getrockneten Lösungsmittels wird ein dickflüssiger, dunkelbrauner Rückstand erhalten, den man in Aethanol aufnimmt und mit Aktivkohle erhitzt.

Aus dem farblos gewordenen Filtrat kristallisiert der Kohlenwasserstoff in blassgelben Blättchen. Durch Umkristallisieren aus Aethanol erhält man 2,5 g des reinen Produktes. Smp. 119°. Ein Mischschmelzpunkt mit dem unter 21 a) gewonnenen Präparat zeigt keine Depression. Ausbeute: 30%.

22. 2,3-Dimethyl-2,3-[*m*-Methoxy-phenyl]-butan

Analog der unter 21 b) angegebenen Herstellung. Der isolierte Kohlenwasserstoff schmilzt zwischen 120 und 121°. Ausbeute: 3,0 g (30%).



C Ber. 80,49

H 8,78%

C Gef. 80,66

H 8,76%

23. ^{14}C - α -Phenylisobuttersäure

In einem 100 ml Dreihalsschliffkolben werden 0,1 g Natrium und 0,33 g Kalium in 20 ml absolutem und gereinigtem Xylol geschmolzen. Die Metalle müssen sorgfältig von allen Krusten befreit werden. Die gesamte Reaktion erfolgt unter Stickstoffatmosphäre. Der Stickstoff wird auf die gleiche Weise wie bei der Herstellung der inaktiven α -Phenylisobuttersäure vorbehandelt. Sobald die Alkalimetalle geschmolzen sind, wird kräftig gerührt, sodass eine feine Suspension entsteht. Man lässt erkalten. Das Lösungsmittel wird soweit als möglich herauspipettiert. Diesem Zwecke dient eine absolut trockene 10 ml Pipette, die oben mit einem kleinen Gummiballon versehen ist. Man verdünnt nun mehrere Male mit absolutem Aether, lässt während kurzer Zeit rühren, wartet bis zur Klärung der Lösung und dekantiert. Auf diese Weise erhält man eine aetherische Suspension der Natrium-Kalium-Legierung. Vor der Umsetzung bringt man das Volumen auf 50 ml. Unter Rühren werden nun aus dem Schliff-Tropftrichter 0,55 ml gereinigter Methyl-2-phenylpropyl-2-aether in 10 ml abs. Aether gelöst, so rasch als möglich zugegeben. Es erfolgt augenblicklich Farbumschlag nach rot. Man lässt während vier Stunden unter Rühren reagieren. Am Kölbchen bringt man auf der Höhe der Flüssigkeitsoberfläche eine Marke an. Somit kann das vom Stickstoffstrom mitgerissene Lösungsmittel immer wieder ersetzt werden. Das Volumen von 50 ml soll nicht unterschritten werden, da die kalium-organische Verbindung sonst einen Bodenkörper bildet, der auch bei starkem Rühren nicht mehr suspendiert werden kann. Die Lösung wird nun mit flüssiger Luft vorsichtig gekühlt. Ist der Kölbcheninhalt fest geworden, so entfernt man so rasch als möglich Tropftrichter, Kühler und Rührer. Die seitlichen Kölbchenhälse werden nach Unterbrechung des Stickstoffstromes mit Schliffstopfen verschlossen. Das Kölbchen wird nun mit dem Kühlgefäß an den Hochvakuumrechen gebracht und unter weiterer Kühlung vorsichtig evakuiert.

Nun kann im Entwicklungsgefäß CO_2 entwickelt werden, das im Reaktionskölbchen ausgefroren wird. Eingesetzt werden 426 mg (0,2 mC) BaCO_3 , welche mit 15 ml konz. und analysenreiner Schwefelsäure zersetzt werden. Nach der CO_2 -Entwicklung wird der Zugang vom Kölbchen zum Hochvakuumrechen unterbrochen und das Kühlgefäß, welches flüssige Luft enthält, entfernt. Das CO_2 lässt man unter Rühren (Magnetrührer)

mit der kalium-organischen Verbindung reagieren. Es tritt sofort Entfärbung ein. Man lässt während 12 Stunden stehen, wobei die Reaktionsmischung von Zeit zu Zeit aufgerührt werden muss.

Man entfernt das Kölbchen vom Rechen und versieht es erneut mit Tropftrichter und Kühler. Die überschüssige Legierung wird nun unter Stickstoff mit möglichst wenig verdünnter Salzsäure zersetzt. Den kongo-sauren Kölbcheninhalt bringt man in einen entsprechenden Röhrextraktor. Während 24 Stunden wird mit Aether oder Petrolaether extrahiert.

Der Aetherauszug wird mit wenig Wasser gewaschen und über MgSO_4 getrocknet. Das Lösungsmittel wird am Wasserstrahlvakuum entfernt. Man erhält 255 mg eines gelb gefärbten Öles. Mit verdünnter Natronlauge wird bis zum Umschlag von Phenolphthalein alkalisch gemacht. Während 12 Stunden wird im Röhrextraktor extrahiert. Bei der Aufarbeitung des aetherischen Auszuges bleiben 50 mg einer farblosen Flüssigkeit zurück, die gegen KMnO_4 stark ungesättigten Charakter zeigt. Eine Mikrodestillation ergibt keinen scharfen Siedepunkt. Dieser Rückstand, der u. a. Isopropenylbenzol enthalten kann, wird nicht weiter untersucht, da er völlig inaktiv ist.

Ansäuern des Rückstandes und erneutes 12stündiges Extrahieren mit Aether ergibt nach Trocknen und Entfernen des Lösungsmittels am Wasserstrahlvakuum einen öligen, gelbbraunen Rückstand von 190 mg. Nach dreimaligem Umkristallisieren aus Pentan werden 130 mg reine Phenylisobuttersäure gewonnen, die bei $78-79^\circ$ schmilzt. Aus den vereinigten Mutterlaugen können weitere 45 mg Säure, Smp. $77,5-79^\circ$, erhalten werden. Gesamtausbeute: 175 mg (50%). Spezifische Aktivität: $1,082 \cdot 10^6$ c/Min.

24. ^{14}C - α -[*m*-Methoxy-phenyl]-isobuttersäure

Analoge Herstellung wie ^{14}C - α -Phenylisobuttersäure. Eine erste Reinigung der Säure erfolgte durch Hochvakuumsublimation. Das aus Pentan-Aethanol umkristallisierte Produkt besitzt einen Schmelzpunkt von 60° . Die Ausbeuten liegen zwischen 40 und 50%. Die spezifische Aktivität betrug: $2,0 \cdot 10^3$ c/Min.

Neben Schmelz- und Mischschmelzpunkt, sowie Analyse, wurden die aktiven Säuren papierchromatographisch nach der aufsteigenden Methode (29) identifiziert. Bei einer Laufzeit von 20 Stunden in Propanol- NH_3 (6:4) und Entwicklung mit Universalindikator Merck (pH: 7,0-7,2) erhielten wir für die beiden Substanzen folgende RF-Werte:

<i>α-Phenylisobuttersäure</i>	RF
Nach Favorskii	0,825
inaktiver Modellversuch mit CO ₂	0,82
Signierung mit CO ₂	0,825

<i>α-[<i>m</i>-Methoxy-phenyl]-isobuttersäure</i>	RF
Nach Favorskii	0,80
inaktiver Modellversuch mit CO ₂	0,80
Signierung mit CO ₂	0,80

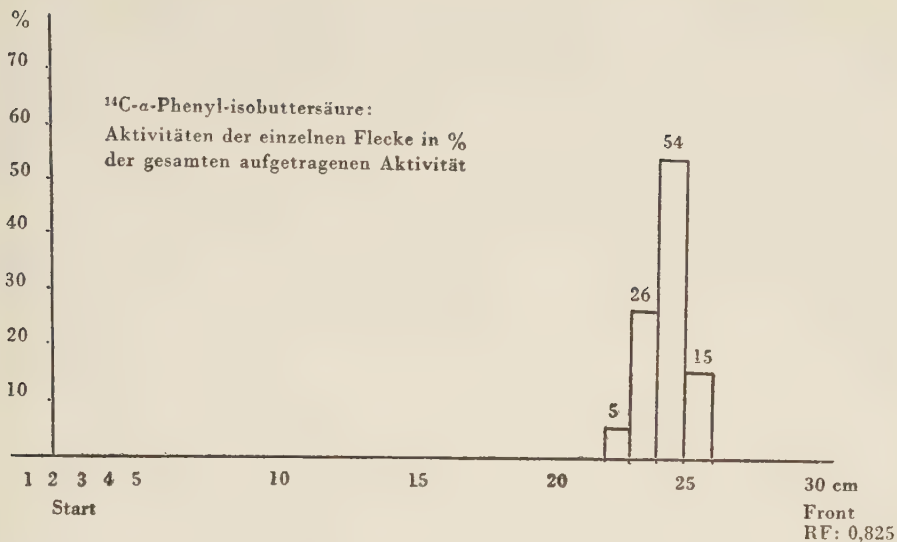
Der verwendete Ammoniak besass eine Dichte von 0,88 (22°). Verwendetes Papier: Whatman 3 MM.

Die mit aktiver Säure gelaufenen Chromatogramme werden ausgemessen, indem man die 3 cm breiten Papierstreifen in 3×1 cm Stückchen zerschneidet, diese auf Kupferplättchen klebt und dreimal im Counter auszählen lässt.

Die Chromatogramme zeigen folgende Aktivitätsverteilung:

cm	<i>a</i> -Phenyl-isobuttersäure			<i>a</i> -[<i>m</i> -Methoxy-phenyl]-isobuttersäure		
	c/Min./cm	% aufgetr. Akt.:	% gef. Akt.:	c/Min./cm	% aufgetr. Akt.:	% gef. Akt.:
1						
2 Start				4,0	1,18	1,3
3				3,0	0,87	0,9
4						
5						
6						
7						
8						
9						
10						
11						
12						
13						
14						
15						
16						
17						
18						
19						
20				6,0	1,76	1,8
21				104,0	30,6	32,0
22	15,0	4,8	5,0	196,0	57,7	60,0
23	78,0	25,0	26,0	13,0	3,8	4,0
24	154,0	49,3	54,0			
25	42,0	13,5	15,0			
26						
27						
28						
29						
30 Front						
31						
Total gef. Akt.:		289,0	92,6	326,0	95,91	
Start Akt.:		312,0	100,0	340,0	100,0	

Die Messergebnisse aus den Chromatogrammen sind graphisch dargestellt.



IV. VERHALTEN DER α -PHENYLISOBUTTERSÄURE IM STOFFWECHSEL

A. Theoretisches

Theoretische Voraussagen über das Schicksal einer chemischen Verbindung im intermediären Stoffwechsel können oft stark an den Tatsachen vorbeiführen. Im Falle der α -Phenylisobuttersäure scheint die unveränderte Ausscheidung am naheliegendsten, indessen war auch eine Paarung oder Hydroxylierung am Ring denkbar. Die Verwendung einer ^{14}C -signierten Verbindung lässt durch Analyse der Expirationskohlendensäure sofort einen tiefergehenden Abbau erkennen und ermöglicht, wie bereits erwähnt, eine quantitative Aussage über das Verbleiben bzw. das Verhalten der dem Organismus einverleibten Substanz.

Unsere Verbindung wurde als Na-Salz per os an 4 Ratten appliziert, welche sich in Stoffwechselkäfigen befanden, womit ein quantitatives Sammeln der Ausscheidungen möglich war. Die aktive Substanz haben wir dabei mit inaktivem Material verdünnt und die aus der Tabelle ersichtlichen Gesamt-Aktivitäten bzw. Gesamtmengen appliziert:

Tabelle 1

Applizierte Gesamt-Mengen und Aktivitäten

Tier	A	B	C	D
Gewicht: g	240	245	390	320
mg Säure	113	113	83	107
mg/kg/die	472	462	214	335
Gesamt-Aktivität c/Min. .	$1,30 \cdot 10^6$	$1,30 \cdot 10^6$	$1,10 \cdot 10^7$	$1,42 \cdot 10^7$

Die Exspirationskohlen­säure enthielt während der ganzen Versuchs­dauer kein radioaktives CO₂. Auch die verseifbaren und unverseifbaren Teile des Magen-Darmtraktes, sowie Nierenfett und Carcass erwiesen sich als inaktiv. Niere, Leber, Magen-Darminhalt und Faeces zeigen geringe Aktivitäten zwischen 0,5 und 6% der eingesetzten Gesamtaktivität.

Bereits die erste Harnprobe, nach 6 Stunden gesammelt, erwies sich als stark aktiv, wobei erst nach 72 Stunden ein Absinken auf den Nullwert festgestellt werden konnte. Die Tabellen 2, 3, 4 geben eine Übersicht über die aufgefundenen Aktivitäten. Es ist dazu zu bemerken, dass bei den beiden Tieren A und B nur Exspirationskohlen­säure, Harn und Faeces untersucht wurden.

Tabelle 2

Aufgefundene Aktivität in % der applizierten Aktivität

	Tier			
	A	B	C	D
Exspirationskohlen­säure .	0	0	0	0
Harn	80,4	88,8	78,9	84,5
Faeces	5,4	2,3	5,5	5,6

Tabelle 3

Aktivitäten der Organe in % der applizierten Aktivität

	Tier	
	C	D
Magen-Darmtractus	1,2	0,7
Inhalt des Magen-Darmtractus.	0	0
Leber.	3,6	3,5
Nieren	0,9	4,2
Nierenfett	0	0
Carcass	0	0

Die Aktivitäten der einzelnen Harnproben verteilen sich folgendermassen:

Std.	Tier A		Tier B	
	c/Min. · 10 ⁶	% Harnakt.	c/Min. · 10 ⁶	% Harnakt.
6	0,4	38,3	0,669	57,9
12	0,27	25,8	0,172	23,6
18	0,151	14,4	0,15	13,0
24	0,1	9,6	0,063	5,5
48	0,063	6,0	—	—
72	0,033	3,2	—	—
96	0,028	2,7	—	—
120	—	—	—	—
144	—	—	—	—
	1,045 · 10 ⁶	100%	1,154 · 10 ⁶	100%

Std.	Tier C		Tier D	
	c/Min. · 10 ⁶	% Harnakt.	c/Min. · 10 ⁶	% Harnakt.
6	3,68	42,4	5,8	48,3
12	2,5	28,8	3,2	26,7
18	1,4	16,1	1,8	15,0
24	0,4	4,6	0,6	5,0
48	0,36	4,2	0,3	2,5
72	0,34	3,9	0,3	2,5
96	—	—	—	—
120	—	—	—	—
144	—	—	—	—
	8,68 · 10 ⁶	100%	12,0 · 10 ⁶	100%

Die aktiven alkalischen Harnfraktionen eines jeden Tieres wurden vereinigt und eingengt. Die Konzentrate reinigten wir mittels präparativer Chromatographie von anorganischen und färbenden Bestandteilen. Dazu diente *Schleicher-Schüll-Papier* 2043b. Die Laufzeit betrug nach der aufsteigenden Methode in Propanol-NH₃ (70:30) 8 Stunden. Die aktive Papierzone wurde ausgeschnitten und mit Propanol-NH₃ (70:30) eluiert.

Die Eluate wurden kongosauer im Röhrextraktor mit Petroläther extrahiert. Nach Abdestillieren des neutral gewaschenen und mit wenig MgSO_4 getrockneten Lösungsmittels erhielt man farblose Kristalle, die unscharf zwischen $75\text{--}79^\circ$ schmelzen. Bereits das Rohkristallisat zeigte denselben RF-Wert (0,825) wie als Vergleichssubstanz mitgelaufene α -Phenylisobuttersäure. Durch Ausmessen der Chromatogramme stellten wir fest, dass nur beim RF-Wert der α -Phenylisobuttersäure radioaktive Zonen auftreten, wie dies bereits bei den Untersuchungen der einzelnen Harnfraktionen zutraf. Durch Umkristallisieren aus Pentan-Alkohol erhielten wir Kristalle, die zwischen $77,5\text{--}79^\circ$ schmolzen. Mischschmelzpunkt und Mischchromatogramm sowie Mikroanalyse bewiesen, dass es sich bei den aus dem Harn isolierten Kristallen um α -Phenylisobuttersäure handelt.

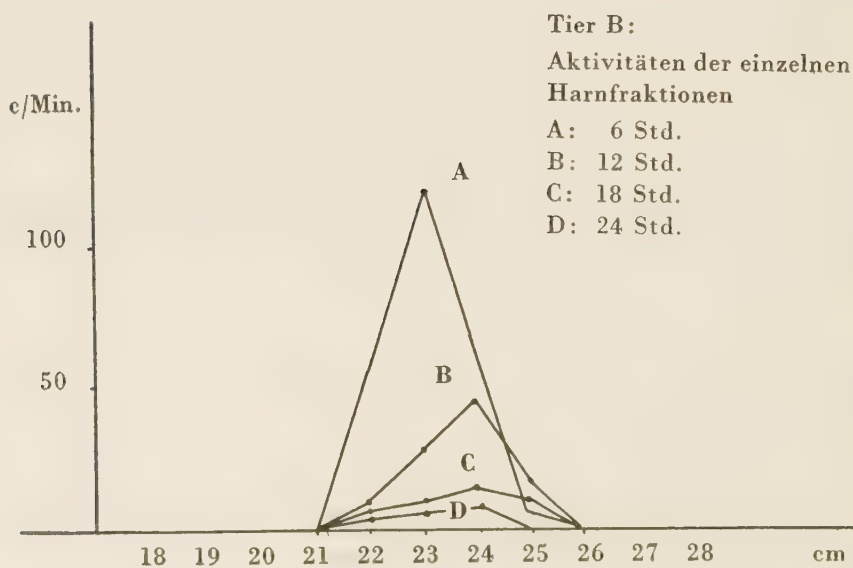
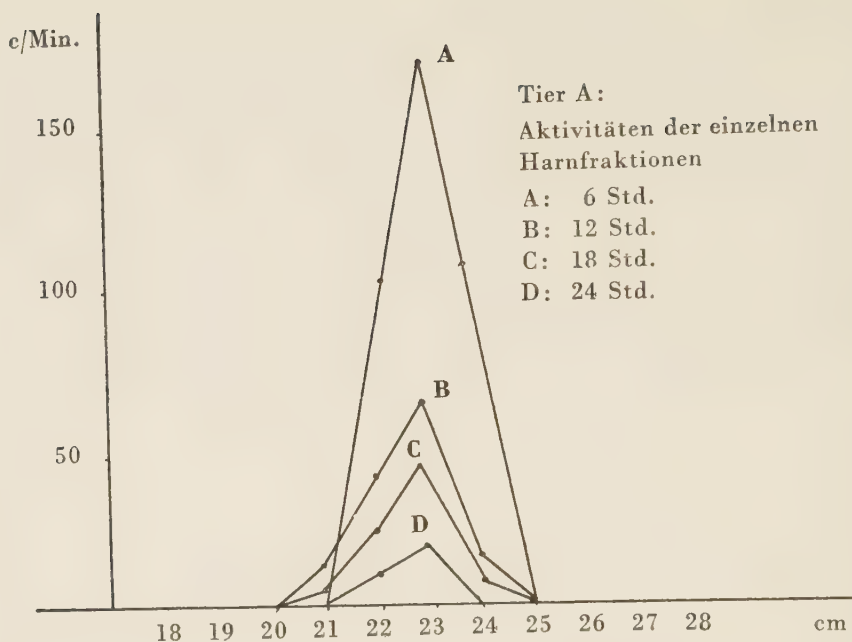
Tabelle 5

Aus dem Harn zurückgewonnene α -Phenylisobuttersäure

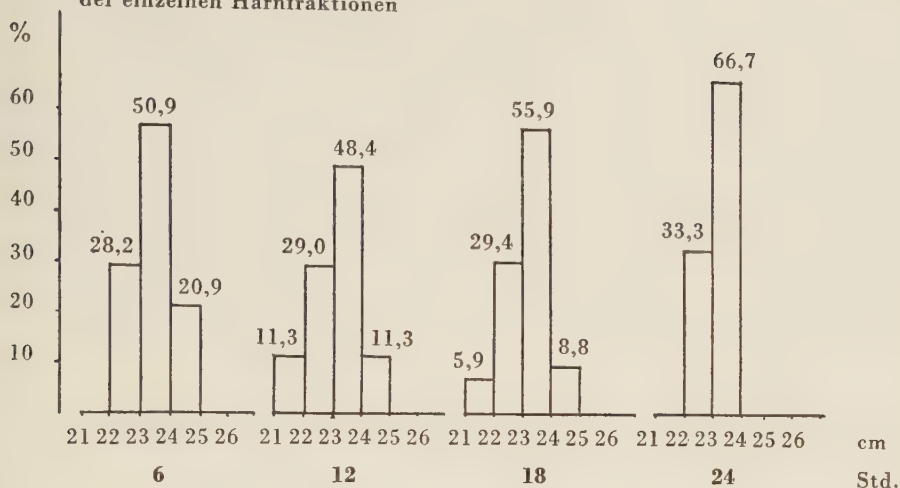
Tier	A	B	C	D
α -Phenylisobuttersäure/mg	84,2	78,3	65,0	85,0
% Akt. appl.				
α -Phenylisobuttersäure . .	74,5	75,0	64,0	70,6
% Harnaktivität	84,0	85,5	78,3	77,4

Auf dem Chromatogramm ist die Aktivitätsspitze der aus dem Harne isolierten Säure mit derjenigen einer Vergleichssubstanz identisch.

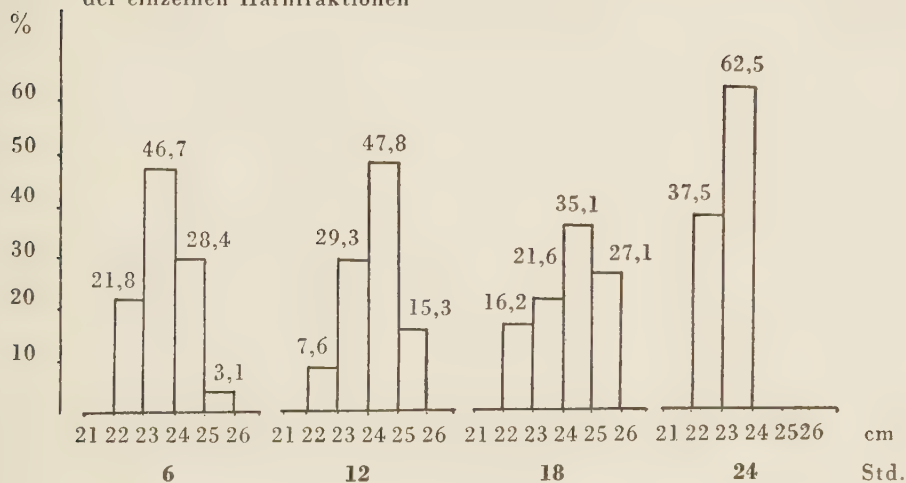
Mit Eisenchlorid wurde keine Färbung erhalten, es dürfte also keine Phenol-Carbonsäure vorgelegen haben.



Tier A:
Prozentuale Aktivitätsverteilung
der einzelnen Harnfraktionen



Tier B:
Prozentuale Aktivitätsverteilung
der einzelnen Harnfraktionen



B. Experimentelles

Die Applikation der Säure erfolgte mit einer Spritze und Schlundsonde.

Die Tiere wurden während der ganzen Dauer des Versuches in Stoffwechselkäfigen gehalten. Störungen traten nicht ein. Nahrungs- und Wasseraufnahme waren normal. Während der ersten Versuchsstunden wurde die Expirationskohlendensäure alle 30 Minuten geprüft, nach 24 Stunden jede Stunde und nach 36 Stunden nur noch zweistündlich. Harn und Faeces des ersten Tages wurden alle 6 Stunden, nachher alle 24 Stunden gesammelt. Die Harnproben haben wir bei alkalischer Reaktion im Kühlraum aufbewahrt. Die Trocknung der Faeces erfolgte im Vakuum-Trockenschrank bei 40°.

Die Expirationskohlendensäure wurde in NaOH geleitet und als Bariumcarbonat gefällt.

Nach Beendigung töteten wir die Tiere und untersuchten die Organe, sowie den Carcass auf ihre Aktivitäten.

Die Lebern und die vom Fett befreiten Nieren haben wir in Wasser homogenisiert und auf bekannte Volumina gebracht. Der Magen-Darmtrakt wurde vom Inhalt befreit und anschliessend mit 2-n KOH/MeOH (1:1) während 4 Stunden bei 70° verseift. Die alkalische Lösung extrahierten wir nach Ansäuern mit H₂SO₄ mit Aether. Der unverseifbare Rückstand wurde getrocknet und pulverisiert. Den Carcass zerkleinerten wir in einer Fleischhackmaschine. Nach Trocknung erfolgt Homogenisierung durch Pulverisierung und Einwage bestimmter Proben zur Verbrennung (2–4 mg). Analog von den einzelnen Harnfraktionen haben wir je nach Trockenrückstand 0,1 bis 0,6 ml abpipettiert.

C. Diskussion der Ergebnisse

Die verabreichte carboxyl-signierte α -Phenylisobuttersäure erfuhr im Tierkörper (Ratte) keinen Abbau. Die Expirationskohlendensäure blieb während der ganzen Versuchsdauer inaktiv, aus dem Harn konnte sowohl präparativ als mit Hilfe der Papierchromatographie der Hauptanteil der applizierten Aktivität als unveränderte Säure wieder erhalten werden. Eine Paarung liess sich nicht feststellen und auch eine Hydroxylierung am Ring trat nicht auf. Da bei der Lipoidlöslichkeit der applizierten Verbindung eine Retention im Unterhaut-Fettgewebe und in den Lipiden der

Organe denkbar war, haben wir die Tiere zu Ende des Versuches aufgearbeitet. Dabei wurden durch aetherische Extraktion die lipidlöslichen Anteile abgetrennt und auf ihre Aktivität geprüft. Tatsächlich konnten wir in den Lipidextrakten der Leber noch 3,6 bzw. 3,5% der applizierten Aktivität nachweisen. Andererseits war das übrige geprüfte Fettgewebe völlig inaktiv. Auch in den wässrigen Auszügen konnte keinerlei Aktivität aufgefunden werden. Wenn demnach α -Phenylisobuttersäure oder eine ähnliche ringssubstituierte Säure als Intermediärprodukt des Abbaues der tertiären Butylgruppe, wie sie in gebräuchlichen Antioxydantien vorkommt, entstehen sollte, dürfte mit der völligen Ausscheidung im Harn gerechnet werden. Eine Decarboxylierung oder ein tiefgehender Abbau ist auszuschliessen, indessen eine Retention in einem, wenn auch nur kleinen Ausmasse, durchaus möglich.

V. ZUSAMMENFASSUNG

1. Es wurde auf die häufigen Beimischungen körperfremder Verbindungen zu Nahrungsmitteln hingewiesen und insbesondere auf die Anwendung künstlicher Antioxydantien zur Verhinderung des Fettverderbs aufmerksam gemacht.
2. Ausgehend von der Überlegung, dass körperfremde Substanzen gegebenenfalls die menschliche Gesundheit beeinträchtigen können, wird das berechtigte Interesse hervorgehoben, welches Untersuchungen zukommt, die das Verhalten derartiger Verbindungen im Tierkörper aufzuklären bestrebt sind.
3. Es ist dabei vor allem wichtig, möglichst quantitative Aussagen zu erhalten, wozu am besten die Isotopentechnik führen kann.
4. In der vorliegenden Arbeit wurden ^{14}C -signierte Phenylisobuttersäure bzw. α -[*m*-Methoxy-phenyl]-isobuttersäure hergestellt. Ausgehend vom Dimethyl-phenyl-carbinol oder 2-Phenyl-propanol-2 erhielten wir mit Salzsäuregas das 2-Phenyl-propyl-chlorid-2 und daraus den entsprechenden Methylaether, der zur kaliumorganischen Verbindung umgewandelt wurde. Durch Einleiten von ^{14}C -signiertem Kohlensäureanhydrid gewannen wir eine carboxyl-signierte α -Phenyl-isobuttersäure und auf ähnlichem Wege auch α -[*m*-Methoxy-phenyl]-isobuttersäure.
5. Erstere Verbindung wurde an Ratten oral verabreicht, welche sie verhältnismässig kurzfristig weitgehend quantitativ wieder ausschieden. Die Expirationskohlensäure blieb während der gesamten Versuchsdauer inaktiv, eine Veratmung fand nicht statt.
6. α -Phenylisobuttersäure wird vom Tierkörper nicht abgebaut und dürfte auch als mögliches Intermediärprodukt entstehend, dasselbe Schicksal erleiden. Eine geringfügige Retention im Ausmasse von etwa 3% der applizierten Menge liess sich auch nach 144 Stunden noch in den Lipidanteilen der Leber feststellen.

VI. LITERATURVERZEICHNIS

- (1) *F. Eichholz*: Die toxische Gesamtsituation auf dem Gebiete der menschlichen Ernährung. Berlin, Göttingen, Heidelberg, Springer 1956
- (2) *K. Lang*: Dtsch. Med. Wschr. 97 (1957)
- (3) *D. Robinson, R. H. Smithies, R. T. Williams*: Biochem. J. 56, 317 (1954); 56, 320 (1954)
D. Robinson, J. R. Smith, R. T. Williams: Biochem. J. 59, 153 (1955)
D. Robinson, R. T. Williams: Biochem. J. 59, 159 (1955)
- (4) *D. D. Dziewiatkowski, H. B. Lewis*: J. biol. Chemistry 158, 77 (1945)
- (5) *S. R. Miriam, J. T. Wolf, C. P. Sherwin*: J. biol. Chemistry 71, 249 (1927)
- (6) *E. Salkowski*: Ber. deutsch. chem. Ges. 12, 653 (1879); 17, 3010 (1884)
- (7) *G. Totani*: Z. physiol. Chem. 68, 75 (1910)
- (8) *H. Thierfelder, C. P. Sherwin*: Ber. deutsch. chem. Ges. 47, 2630 (1914)
- (9) *C. P. Sherwin*: J. biol. Chemistry 31, 307 (1917)
- (10) *O. Wallach*: Chem. Zbl. 1879 II, 1047
- (11) *V. Grignard*: C. r. hebd. Séances Acad. Sci. 132, 1184 (1901)
- (12) *V. Grignard*: Chem. Zbl. 1901, II, 624
- (13) *V. Grignard, A. Klages*: C. r. hebd. Séances Acad. Sci. 130, 1325 (1900); Ber. deutsch. chem. Ges. 35, 2637 (1902)
- (14) *K. Ziegler und Mit.*: Liebigs Ann. Chem. 473, 18 (1929)
- (15) *K. Ziegler, B. Schnell*: Liebigs Ann. Chem. 437, 18 (1924)
- (16) *K. Ziegler, F. Thielmann*: Ber. deutsch. chem. Ges. 56, 1740 (1923)
- (17) *W. Schlenk, A. Thal*: Ber. deutsch. chem. Ges. 46, 2843 (1913)
- (18) *A. Favorskii*: J. prakt. Chem. 51, 533 (1895); 88, 658 (1914)
- (19) *G. Richard*: C. r. hebd. Séances Acad. Sci. 197, 1432 (1933); 200, 1944 (1935)
J. G. Aston, R. B. Greenberg: J. Amer. chem. Soc. 62, 2590 (1940)
- (20) *W. D. Mc. Phoe, E. Klingsberg*: J. Amer. chem. Soc. 66, 1132 (1944)
- (21) *A. C. Cope, E. S. Graham*: J. Amer. chem. Soc. 73, 4706 (1951)
- (22) *R. Jacquier*: Bull. Soc. chim. France D 35 (1950)
- (23) *R. B. Loftfield*: J. Amer. chem. Soc. 73, 4707 (1951)

- (24) *J. G. Burr, J. S. Dewar*: J. chem. Soc. 1954, 1201
- (25) *J. Schmidlin*: Ber. deutsch. chem. Ges. 39, 636 (1903)
E. Fischer, O. Fischer: Liebigs Ann. Chem. 194, 260 (1878)
- (26) *C. Böttinger*: Ber. deutsch. chem. Ges. 14, 1595 (1881)
- (27) *B. M. Tolbert*: J. Amer. chem. Soc. 69, 1530 (1947)
- (28) *F. D. Tollenaar*: Fette, Seifen 56, 41 (1954); 58, 112 (1956)
R. H. Rosenwald, J. A. Chenicek: J. Amer. Oil chem. Soc. 28, 185 (1951)
W. M. Gearhart, B. N. Stuckey: J. Amer. Oil chem. Soc. 32, 386 (1955)
G. J. Miller, F. W. Quackenbush: J. Amer. Oil Chem. Soc. 34, 249 (1957)
- (29) *R. J. Williams, H. Kirby*: Science 107, 481 (1948)
- (30) *A. Béhal, M. Tiffeneau*: C. r. hebd. Séances Acad. Sci. 139, 140 (1904)
- (31) *A. I. Vogel*: Textbook of Pract. org. Chem. 176, Longman, Green & Co., London, New York, Toronto (Auflage 1948)
- (32) *K. Ziegler, B. Schnell*: Liebigs Ann. Chem. 437, 255 (1924)
- (33) *G. Wittig*: Ber. deutsch. chem. Ges. 64, 442 (1931)
- (34) *C. Graebe*: Liebigs Ann. Chem. 340, 211 (1905)
- (35) *K. v. Auwers*: Liebigs Ann. Chem. 408, 254 (1915)
- (36) *C. Smith, W. Lewcook*: Ber. deutsch. chem. Ges. 45, 2358 (1912)
- (37) *Ch. Schmidt*: Ber. deutsch. chem. Ges. 22, 3250 (1889); J. prakt. Chem. 2, 46, 480 (1892)
- (38) *M. Leuchs*: Ber. deutsch. chem. Ges. 62, 877 (1929)

Curriculum vitae

Am 15. Februar 1928 wurde ich, Hans Thommen, als Sohn des Heinrich Thommen (Eidg. Beamter) und der Frieda, geb. Keppler, in Basel geboren. Hier besuchte ich die Primarschule und das Realgymnasium und bestand im Frühjahr 1947 die Maturitätsprüfung. Anschliessend wendete ich mich an der Philosophisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität Basel dem Chemiestudium zu und wählte in der Folge physikalische Chemie, physiologische Chemie und Botanik als Nebenfächer.

Bei folgenden Dozenten habe ich Vorlesungen und Praktika besucht: P. Bearth, K. Bernhard, M. Brenner, P. Buchner, C. Grob, H. Dahn, H. Erlenmeyer, S. Fallab, M. Geiger, F. Grün, P. Huber, H. Kuhn, W. Kuhn, H. Mohler, H. Nüesch, A. Portmann, T. Reichstein, E. Salin, E. Schlittler, Ch. Tamm, J. Tomcsik, W. Vischer, R. Wizinger.

Die vorliegende Dissertation entstand unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. K. Bernhard am Physiologisch-Chemischen Institut der Universität in der Zeit vom Winter 1954 bis Winter 1957.

